

Oponentský posudek disertační práce

Radky Joskové

ANTIMICROBIAL LYTIC FACTORS OF THE COELOMIC FLUID OF EARTHWORMS

Disertace se zabývá studiem faktorů přirozené imunity u žížal. Byla vypracována v laboratoři zabývající se již léta fylogenezí imunitních reakcí, což je zaměření u nás unikátní. Na pracovišti byly již v minulosti získány unikátní a mezinárodně uznávané poznatky, z kterých předkládaná práce vychází a na něž navazuje.

Disertace je založena na 6 původních mezinárodních publikacích v impaktovaných časopisech. U jedné z prací je kandidátka první autorkou. Disertace je pečlivě vypracována a je členěna obvyklým způsobem: literární úvod, záměry, výsledky, souhrnné závěry a diskuse, seznam prací autorky, bibliografie a přiložené publikace, z nichž práce vychází. Záměry disertace jsou dobře koncipované a přehledně formulované. V části „Výsledky“ je stručný komentář ke každé z přiložených prací s kritickým zhodnocením výsledků. Vzhledem k tomu, že jde o téma velice zajímavé a ne dostatečně všeobecně známé, nevidilo by, kdyby byl literární úvod podrobnější. Značné množství výsledků, které byly získány, by si též zasloužilo zevrubnější závěrečnou diskusi. Avšak vzhledem k tomu, že jsou přiloženy původní publikace s podrobnou diskusí k jednotlivým řešeným tématům, nelze to pokládat za větší nedostatek.

Konkrétně je práce zaměřena na studium několika humorálních obranných faktorů u žížal: lysozymu, coelomového cytolytického faktoru, kalretikulinu, dvou hemolytických molekul – fetidinu a lyseninu- a fenoloxidázové kaskády. Experimentální práce je z velké míry založena na náročných molekulárně biologických metodách a srovnávacích studiích, které přinesly odhalení některých vývojově značně konzervovaných mechanismů, které ukazují na důležitost některých složek obranných reakcí a na souvislosti mezi obrannými mechanismy bezobratlých a obratlovců.

Původním a závažným výsledkem je průkaz a charakterizace nového typu lysozymu bezobratlých u *E. andrei*. U tohoto lysozymu byla kromě muraminidázové aktivity zjištěna i aktivita izopeptidázová. Vyskytuje se obdobný typ lysozymu se dvěma enzymatickými aktivitami také u jiných živočichů? Překvapilo mě značné zvýšení genové exprese lysozymu

po perorální stimulaci žířal *E. coli* nebo *B. subtilis*. *E. andrei* přece žije v prostředí plném mikroorganismů – za těchto okolností je konstitutivní exprese genu pro lysozym tak nízká, že může být po podání dalších běžných bakterií tolikanásobně snížena?

Studium struktury a srovnávací studie prokázaly společný původ kalretikulinu *E. fetida* a měkkýšů. Jsou známa ještě jiné vývojové podobnosti mezi těmito živočichy?

Velmi zajímavý je průkaz funkční homologie mezi cytolytickým coelomovým faktorem a TNF obratlovců, která není podložena homologií strukturální. Je to ukázka toho, jak lze různými cestami vývoje dojít ke stejnému nebo velmi podobnému účinku.

U *E. fetida* byly podrobně charakterizovány dvě homologní hemolytické molekuly fetidin a lysenin. U jiných testovaných žířal exprese těchto látek prokázána nebyla. Nejsou u jiných žířal prokázány jiné typy hemolyzinů, nebo je hemolytická aktivita přítomna jen v coelomové tekutině Eisenií?

Pro charakterizaci obranných mechanismů žířal je rovněž důležité zjištění, že fenoloxidázová kaskáda zde nehraje tak důležitou roli jako u jiných bezobratlých.

Závěr

Disertační práce R. Joskové přináší řadu zajímavých a prioritních výsledků. Je důkazem zvládnutí mnoha náročných metod, dobré orientace v oboru, schopnosti samostatné tvůrčí vědecké práce a kritického hodnocení výsledků. Doporučuji, aby byla práce přijata jako podklad k udělení vědecké hodnosti PhD.

Prof. MUDr. Ludmila Prokešová, CSc

V Praze 16. 11. 2009